



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**TÉCNICA DE MICROARRAYS DE TEJIDOS COMO METODO EFECTIVO  
EN HISTOQUIMICA PARA MÚLTIPLES ESTUDIOS HISTOLÓGICOS**

**AUTORES:  
JHOANNY MONTILLA  
MIRLAY PALMA  
RONALD OJEDA  
RUBÉN SÁNCHEZ  
TUTOR:  
JOSE LUIS ALLES**

**VALENCIA, OCTUBRE DE 2013**



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS**  
**DIRECCIÓN DE ESCUELA**  
**COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y PRODUCCIÓN INTELECTUAL**



**CONSTANCIA DE APROBACIÓN**

Quienes suscribimos, Prof. Lisbeth Loaiza, Directora de Escuela, y Prof. Maira Carrizales, coordinadora del comité de Investigación y Producción de la Escuela, Hacemos constar que una vez obtenidas las evaluaciones del tutor, jurado evaluador del trabajo en la presentación escrita y jurado de la presentación oral del trabajo final de grado titulado: **TÉCNICA DE MICROARRAYS DE TEJIDOS COMO METODO EFECTIVO EN HISTOQUÍMICA PARA MÚLTIPLES ESTUDIOS HISTOLÓGICOS**, presentado como requisito para obtener el título de Técnico Superior Universitario en Histotecnología, el mismo se considera Aprobado.

En valencia a los Veintiún días del Mes de Octubre del año Dos Mil Trece.

**Prof. Lisbeth Loaiza**  
Directora

**Prof. Maira Carrizales**  
Coordinadora



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE ENTREGA**

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico titulado:

**TÉCNICA DE MICROARRAYS DE TEJIDOS, COMO METODO EFECTIVO  
EN HISTOQUÍMICA PARA MÚLTIPLES ESTUDIOS HISTOLÓGICOS**

Presentado por los bachilleres:

|                  |                 |
|------------------|-----------------|
| Jhoanny Montilla | C.I.20.724.577  |
| Mirlay Palma     | C.I. 23.417.621 |
| Ronald Ojeda     | C.I. 24.911.946 |
| Rubén Sánchez    | C.I. 21.457.183 |

Fue leído el trabajo monográfico y se considera que cumple con los parámetros metodológicos exigidos para su aprobación. Sin más a que hacer referencia, se firma a los 15 días del mes de Octubre del año 2013.

**José Luis Alles**  
**C. I. N°: 5.414.653**

---

Firma del Tutor  
(O Representante de la comisión Revisora)



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**TÉCNICA DE MICROARRAYS DE TEJIDOS, COMO METODO EFECTIVO  
EN HISTOQUIMICA PARA MULTIPLES ESTUDIOS HISTOLOGICOS**

**AUTORES:**

**JHOANNY MONTILLA**

**MIRLAY PALMA**

**RONALD OJEDA**

**RUBÉN SÁNCHEZ**

**TUTOR:**

**JOSE LUIS ALLES**

**Año: 2013.**

**RESUMEN**

En los laboratorios de patología las coloraciones especiales y las reacciones Inmunohistoquímica se hacen con la utilización del corte histológico completo del tejido. Sin embargo, en algunos casos individuales, y para la utilización de series, es ventajoso el uso de métodos que puedan procesar un número grande de reacciones. El primer paso en la construcción de una matriz de tejido es seleccionar las áreas de interés en los sucesivos bloques de parafina. De las zonas marcadas se obtendrán cilindros de tejido, que se insertarán ordenadamente en forma de matriz en un bloque vacío de parafina, Como es evidente el paso previo a la inserción consiste en la realización de un agujero en el bloque receptor, que permitirá albergar el cilindro procedente del bloque donante. A pesar de que los microarrays se han convertido en una herramienta esencial, tanto la selección del material como la interpretación parecen ser las limitaciones de mayor índole. El presente estudio tiene como propósito presentar una alternativa a los Estudiantes y profesionales de ciencias de la salud que estén interesados en realizar estudios histológicos, con el fin de crear un bloque de múltiples tejidos, a través de la técnica de microarrays, a fin de mejorar la calidad educativa, informativa y al campo de la investigación que se estén realizando. Como producto de este trabajo investigativo la técnica de microarrays es un aporte eficaz en histoquímica creando así un bloque control que nos sirva de confirmación ante otras láminas histológicas con métodos convencionales.

**Descriptores:** Inmunohistoquímica, Matriz, Microarrays, Histoquímica, Patología.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS  
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**MICROARRAYS TECHNICAL FABRICS AS EFFECTIVE METHOD FOR  
MULTIPLE STUDIES HISTOCHEMISTRY TYPING**

**AUTHORS:**

**JHOANNY MONTILLA**

**PALMA MIRLAY**

**RONALD OJEDA**

**RUBEN SANCHEZ**

**GUARDIAN :**

**JOSE LUIS ALLES**

**Year : 2013 .**

**ABSTRACT**

Pathology laboratories in the special stains and Immunohistochemistry reactions are made with the use of complete histological tissue. However, in some individual cases, and to the use of series, it is advantageous to use methods which can process a large number of reactions. The first step in the construction of a tissue matrix is to select areas of interest at successive paraffin blocks. Marked areas tissue cores are obtained, which are inserted in a matrix orderly in an empty block of paraffin, as is evident to the insertion step consists in making a hole in the recipient block, which will house the cylinder from the donor block. Although microarrays have become an essential tool, both the choice of material and the interpretation speak more such constraints. The present study aims to present an alternative to students and professionals in health sciences who are interested in histological studies, in order to create a block of multiple tissues through microarray technology in order to improve educational quality, informative and to the field of research that is being performed . As a result of this research work the microarray technique is an effective contribution in histochemistry creating a control block that will be a histological confirmation before other conventional methods sheets.

**Descriptors:** Immunohistochemistry, Matrix, Microarrays, Histochemistry, Pathology.

## INTRODUCCIÒN

En esta era donde la globalización ocupa las primeras páginas de los medios de comunicación masivos, donde la tecnología y las comunicaciones son pilares de la economía mundial, la ciencia tiene sus propios desafíos. Ambos han producido un cambio esencial en el método científico, la relación “un experimento, un dato” deja de ser obvia, y el resultado final de los nuevos experimentos es un caudal de datos que deben procesarse minuciosamente para extraer la información útil al científico. Desde que se completó el proyecto genoma humano, las preguntas se han sucedido en cuanto a identificar las funciones, regulación e interacción de genes en procesos celulares y cambios en la expresión génica debidos a enfermedad o tratamiento. Una década atrás pensar en un experimento que abarcara la detección de cada transcripto en una célula hubiera parecido extraído de una película de ciencia ficción. Hoy es posible gracias a que múltiples disciplinas que unieron esfuerzos para integrarse en el desarrollo, diseño y análisis de la técnica de microarrays. (1)

La magnitud creciente de información y el desarrollo de técnicas innovadoras provee hoy al investigador de herramientas poderosas, flexibles, no tóxicas y de alto rendimiento. Esta escala ampliada, tanto en la cantidad como en la calidad de los datos obtenidos en experimentos de microarrays plantea una cuestión adicional no sólo porque el volumen de datos que deben ser procesados es muy elevado, sino también porque muchos de dichos datos son obtenidos de manera colateral, sin una hipótesis previa que guíe el experimento, o involucran genes que hoy no tienen función asignada aún para organismos modelo. La información global no es ni buena ni mala en sí misma, es un instrumento que, adecuadamente utilizado, permitirá alcanzar mayores niveles de conocimiento.

En este sentido, Otero-Rey E, García-García A, Barros-Angueira F, Torres-Español M., Gándara-Rey JM, Somoza-Martín M. Medicina Oral. (2004), Define los microarrays como pequeñas placas de cristal o membranas de nylon a las que se adhieren secuencias específicas de cientos de genes”. (2)

Por lo tanto, en la actualidad, surge la imperiosa necesidad en los Centros Asistenciales (Públicas o Privadas) e instituciones universitarias, de poseer un instrumento técnico, en la cual se desarrollen técnicas innovadoras como lo son los micromatrices de tejidos “Microarrays Tissular, descrita con detalle en 1998, permite estudiar y localizar de

manera rápida y precisa muchos cilindros de tejido en una sola sección histológica. El primer paso en la construcción de una matriz de tejido es seleccionar las áreas de interés en los sucesivos bloques de parafina. De las zonas marcadas se obtendrán cilindros de tejido, que se insertarán ordenadamente en forma de matriz en un bloque vacío de parafina (“bloque receptor”). Como es evidente el paso previo a la inserción consiste en la realización de un agujero en el bloque receptor, que permitirá albergar el cilindro procedente del bloque donante. Una vez finalizada la matriz, el bloque de parafina puede ser utilizado con múltiples fines, principalmente estudios inmunohistoquímicos, produciendo al menos 100 secciones. (3)

Esta Nueva Técnica La cual está implicada al área biomédica, farmacéutica y clínica; Ya que constituyen un método sencillo de análisis de expresión que se fundamenta en la realización de “biopsias” cilíndricas de tejidos tumorales embebidos en parafina, preservando el resto del tejido para estudios futuros , en este caso para estudios relacionados con la histología modificando lo que cotidianamente se realiza dentro de un laboratorio de Histotecnología y así analizar grandes series de tumores y validar los resultados obtenidos con otras técnicas, como los ADN complementario (ADNc), oligonucleótido microarrays, así como de la hibridación genómica comparada (CGH). (4)

A nivel mundial esta técnica es aplicada en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Cinvestav, y del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, CICATA, (5) del Instituto Politécnico Nacional, México; Genoma España y la Fundación General de la universidad Autónoma de Madrid (FGUAM), entidad que gestiona el Círculo de Innovación en Biotecnología (CIBT), perteneciente al sistema de promoción regional de la innovación Madrid, España (6); Centro Regional de Estudios Geonómicos.CREG-UNLP; (7) Project Manager Sequencing Latin America Roche Brasil; Genomics Specialists, Clinical Research Sales Development. Affymetrix-Estados Unidos.

A nivel nacional En el IBE Instituto de biología experimental, Caracas Venezuela, (8) Universidad Central de Venezuela, facultad de ciencias y a nivel estatal Centro de investigaciones Médica y Biotecnológica Universidad de Carabobo (CIMBUC). (9)

Como podemos observar, dicha técnica es confiable gracias a lo expuesto anteriormente, sin embargo no es usada cotidianamente, por lo que se debe acotar que

esto es a causa de la falta de conocimiento y desinterés de técnicas innovadoras capaces de potenciar el área científica y médica del país, por la poca aplicación de la técnica en los laboratorios, ya sea por desconocimiento de la misma o falta de técnicos que puedan realizar el método, poco interés en los estudios histológicos o histopatológicos, entre otros. La evolución de esta tecnología de avanzada en el tiempo llevó a una disminución de los costos asociados y de los requerimientos de infraestructura, haciendo hoy factible su aplicación en empresas farmacéuticas y en un futuro no muy lejano en centros biomédicos especializados.

Por consiguiente, ante la ausencia de una herramienta práctica que les muestre a los trabajadores y estudiantes los pasos para desempeñar las labores; traerá como consecuencia numerosos factores, como lo es el atraso a nivel tecnológico, Mayor tiempo en diagnósticos histopatológicos y estudios histológicos.

En este sentido, las organizaciones médicas e institutos universitarios con visión futurista, estarán en la búsqueda constante de mejorar cada día los procedimientos que ayudarán a la completa realización de funciones a cabalidad y dentro de estas herramientas se cuenta con numerosas técnicas histológicas especializadas para un futuro estudio de la muestra. A través de esta técnica, como lo es la TMA se orienta y facilita a los miembros de las organizaciones médicas e instituciones que se desenvuelvan en el área de investigación, incluso diagnóstica, que dicha técnica puede alcanzar las metas y objetivos propuestos.

En el campo de las ciencias biomédicas, se están asistiendo desde hace años a un avance de la biología molecular y más concretamente de la disciplina Biomédica como lo es la Histotecnología, gracias a la continua implementación y desarrollo de técnicas experimentales a disposición de los investigadores en los laboratorios, como Las tradicionales técnicas histológicas, basadas en procedimientos sencillos para la evaluación microscópica de las lesiones con la ayuda de técnicas Histoquímicas e Inmunohistoquímicas, están siendo complementadas por nuevas herramientas de diagnóstico molecular, imprescindibles para la correcta evaluación y diagnóstico en numerosos tipos de cáncer (linfomas y leucemias, sarcomas infantiles, cáncer familiar, cáncer pulmonar, etc.). (10)

Los microarrays representan una de las herramientas recientes con las que cuentan los investigadores para hacer frente a la resolución de los problemas biológicos basados en nuevos enfoques que se orientan a la obtención masiva de información, ya que la

utilización de esta técnica tiene grandes ventajas que hacen posible efectuar un estudio en un tiempo escaso, ello se haya motivado por una rápida velocidad en el procesamiento de las muestras, la posibilidad del análisis simultaneo, el estandarizado de múltiples biopsias y la existencia de un área de tamaño suficiente para analizar. (11) Es importante destacar que la técnica histológica común o cotidiana, es usada para el procesamiento habitual de cada muestra, por lo que a la hora de realizar un estudio o preparación de laminas que sirvan de estudio histológico, esto conlleva a un largo tiempo, gastos de utensilios y reactivos (dentro y fuera del laboratorio).

Es por esto que, esta investigación tiene como objeto de estudio, presentar una alternativa a los Estudiantes y profesionales de ciencias de la salud que estén interesados en realizar estudios histológicos, con el fin de crear un bloque histológico de múltiples tejidos, a través de la técnica de microarrays, a fin de mejorar la calidad educativa, informativa y al campo de la investigación que se estén realizando.

En tal sentido, las consideraciones anteriores, es oportuno orientar este estudio hacia las siguientes interrogantes de investigación: ¿Qué beneficios trae la utilización de la técnica Microarrays en los laboratorios o para el conocimiento de estudios histológicos?, ¿Es factible la utilización de esta técnica por los estudiantes y profesores.

Para responder las interrogantes anteriores, se realizara una revisión documental, ya sea de a través de libros académicos, Citas de internet, Artículos de revistas, entre otros; con la finalidad de obtener las respuestas necesarias en beneficio de esta investigación.

Es por esto que la presente investigación se considera Documental ya que Según Arias (2004) “es un proceso basado en la búsqueda, recuperación, análisis, critica e interpretación de datos secundarios, es decir, los obtenidos y registrados por otros investigadores en fuentes documentales: impresas, audiovisuales o electrónicas”. (12) Igualmente presenta una modalidad de tipo monográfico, Según Kaufman y Rodriguez (1993), la monografía es un texto de información científica, expositivo, de trama argumentativa, de función predominantemente informativa, en el que se estructura en forma analítica y crítica la información recogida en distintas fuentes acerca de un tema determinado. (13)

## **DESARROLLO**

Toda ciencia busca establecer las relaciones existentes entre diversos hechos e interconectarlas entre sí, a fin de lograr conexiones lógicas que permitan presentar axiomas en los distintos niveles del conocimiento, determinando la objetividad de las relaciones que establece entre los hechos y fenómenos de que se ocupa. (14) La explicación de los hechos, a través de las teorías contribuye, en una medida considerable al progreso de la investigación. El presente marco teórico contempla toda aquella información necesaria para el desarrollo de la investigación con respecto a Microarrays de tejidos.

### **Antecedentes de la investigación**

Dentro de los desarrollos en los trabajos de investigación, todo lo que sirve para evaluar hechos posteriores se denomina Antecedentes encontrados referentes a la Técnica De Microarrays Tisular, como método efectivo en la creación de un bloque de múltiples tejidos para estudios histológicos. Existen trabajos de investigación que guardan relación con el trabajo en desarrollo, los cuales fueron presentados por personas y organismos tanto públicos como privados que han contribuido al desarrollo de la presente investigación, es así que:

Según Barajas, en el año 2010, Realizó una tesis titulado “Caracterización del Inmunofenotipo para el EGFR, TBXA2R Y SMAD3 En Arreglos de Tejido para el Diagnóstico Diferencial Entre Adenoma e Hiperplasia Paratiroidea en una Muestra de Pacientes Intervenidos Quirúrgicamente por HPTP no Familiar”. El cual, tuvo como objetivo Determinar si existen diferencias en el inmunofenotipo para los marcadores del EGFR, TBXA2R y SMAD3, que nos permitan discernir categóricamente entre adenoma e hiperplasia paratiroideos en una muestra de pacientes mexicanos intervenidos quirúrgicamente en nuestro instituto por HPTp de origen no familiar. Este estudio puede ser considerado de alcance descriptivo correlacional, con un seguimiento transversal, con una colección de datos de temporalidad mixta (tanto pro como retrospectivo), en la cual la muestra fue conformada por 37 adenomas únicos y 12 hiperplasias paratiroideas. La técnica empleada fue crear microarreglos de 7x8 de arreglos de 2 mm de diámetro de tejido de los bloques de parafina de dichos pacientes, luego se realizó inmunohistoquímica previa esparafinización/rehidratación con recuperación antigénica

por proteasa y reacción Ag-Ab con bloqueo de peroxidasa-DAB. Se utilizaron anticuerpos de conejo mono y policlonal para EGFR, TBXA2R y SMAD3 con reactividad para humano disponibles de manera. El análisis de los resultados comprobó que el 82% de los casos fueron mujeres, con una edad media de 52 (30-77 años). Los adenomas se localizaron preoperatoriamente en el 75.7% de los casos. El 100% de las hiperplasias fueron bilaterales. (15)

Esta investigación guarda relación con la presente, en cuanto a que utiliza la técnica de Microarrays de Tejidos (TMAs) como un método Innovador poco complejo y muestran el buen funcionamiento y eficaz en investigaciones. Sin embargo se diferencian en que en la investigación referencial estudia los inmunofenotipo para el EGFR, TBXA2R Y SMAD3 en arreglos de tejido para el diagnóstico diferencial Entre Adenoma e Hiperplasia Paratiroidea, mientras que esta, se basa sencillamente en llevar a conocer la técnica de Microarrays, como un método innovador, aplicable y eficaz para prácticas en histología.

Por su parte, Martínez y otros en el año 2011, realizaron un trabajo investigativo titulado **“Comparación Histológica e Inmunohistoquímica de Muestras de Tejido Procesadas por la Técnica Convencional o por el Método Simplificado de Acetonas”** El objetivo de este trabajo fue comparar parámetros histológicos e inmunohistoquímicos en muestras de tejido procesadas por el método convencional de deshidratación con alcoholes y con la TA. Es un estudio de tipo experimental, con diseño documental. La muestra utilizada fueron, 90 muestras de biopsias excisionales de los siguientes órganos: glándula mamaria, colon y riñón. La técnica implementada fue, obtener cortes histológicos de 5 micras de espesor, y teñidos simultáneamente con Hematoxilina y Eosina (H y E) I. Posteriormente de éstos cortes se seleccionaron áreas de interés comparativas para ambas técnicas y se disecaron de los bloques de parafina utilizando la técnica de elaboración de Histoarreglos modificada por Hidalgo et al. (2003). De estos bloques se obtuvieron cortes de 4 micras los cuales fueron teñidos por la técnica de Tricómico de Masson e inmunohistoquímica utilizando el sistema de detección EnVision y anticuerpos específicos para su identificación. Los resultados comprobaron que en las muestras analizadas en nuestro estudio y procesadas por la TA se observaron valores promedio para la tinción de H y E entre  $7,2 \pm 0,5$ - $8,1 \pm 0,9$  para la calidad de la tinción nuclear,  $7,2 \pm 0,5$ - $7,5 \pm 1$  para la calidad de la tinción citoplásmica y

8,1±3-9,5±0,5 para la calidad general del corte. En las muestras teñidas con tricrómico de Masson se obtuvieron valores promedio entre 7,5±1,2-7,7±1,1 para la calidad de la tinción nuclear, 7,5±0,7-7,8±0,8 para la calidad de la tinción citoplásmica y 7,6±0,9-8,1±1,2 para la calidad de la tinción de la colágena, éstos valores fueron similares a los resultados observados para las muestras procesadas por la TC. (16)

Esta investigación guarda relación con la presente, ya que la técnica histológica convencional o método simplificado con Acetonas, son utilizadas para la evaluación de parámetros descritos de cada muestra y estudios histológicos, solo para la mejora de los procesamientos y comparación de las mismas. Sin embargo se diferencian en que la investigación referencial se basa, en la comparación de parámetros histológicos e inmunohistoquímicos en muestras de cáncer de mama, colon y riñón tratadas con ambos métodos. Los cortes fueron teñidos con H & E o tricrómico de Masson, mientras que esta se argumenta en presentar una alternativa a los Estudiantes y Profesionales de Ciencias de la salud interesados en estudios histológicos en la aplicación de la técnica de Microarrays para facilitar el estudio de múltiples muestras en una sola lamina de coloraciones especiales.

Según Burgos y Estrada en el año 2012, Realizaron un trabajo investigativo titulado **“Efecto en la Estructura Histológica del Timo de Ratas Sprague-Dawley Tratadas con Trióxido de Arsénico”**. El cual, tuvo como objetivo, determinar el daño histológico que provoca el trióxido de arsénico a nivel de los compartimentos del timo de ratas. Es un estudio de tipo experimental, con diseño de documental, en la cual la muestra fue conformada por 24 ratas de ambos sexos de 55 días de vida. La técnica empleada fue dividir en 3 grupos (4 hembras y 4 machos). Mediante técnica histológica convencional se obtuvieron 4 muestras seriadas de cada timo, de 5 µm de espesor y separadas por 100 µm entre sí, luego fueron teñidas con H-E. El análisis de los resultados mostró que el As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> provoca la pérdida de celularidad en ambos compartimentos del timo, tanto en la corteza como en la médula, viéndose más afectado el compartimento medular (junto a la unión corticomedular). (17)

Esta investigación guarda relación con la presente, en cuanto a que ambas se basan en el estudio histológico y en aporte a la investigación en laboratorios de anatomía patológica. Sin embargo se diferencian en que en la investigación referencial estudia

estructura histológica en el Timo de las ratas, mientras la presente se fundamenta en la técnica microarrays, para estudios histológicos en general, con la finalidad de crear un bloque de múltiples tejidos, sin usar la técnica convencional por completo.

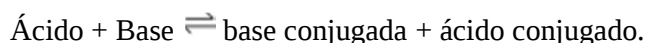
### **Teoría Acido – base**

Teoría de Acido - Base Brönsted-Lowry por Brönsted y Lowry (1923): describe el comportamiento de ácidos y bases, resaltando el concepto de pH y su importancia en los procesos químicos, biológicos y ambientales debido a que ayuda a entender por qué un ácido o base fuerte desplazan a otro ácido o base débil de sus compuestos, contemplando a las reacciones ácido-base como una competencia por los protones. (18)

Así, bajo el concepto de Brönsted-Lowry, propone que un *ácido* es sinónimo de donador del hidrogenión  $[H^+]$ , mientras que la base significa un aceptor del hidrogenión  $[H^+]$ . Los estudios de estos autores fue trabajar con disolventes distintos del agua, realizando experimento con ácidos y bases en solución, que desafiaba la definición clásica de ácidos y bases no relacionados al crear un nuevo concepto el de pares ácido-base conjugados.

Del mismo modo Brönsted y Thomas Lowry Postulan en 1923:

Que, si un compuesto se comporta como un ácido, donar un protón, debe existir una base para aceptar el protón. Así, el concepto de Brönsted-Lowry puede ser definido por la reacción:



La base conjugada es el ion o molécula que queda después de que el ácido ha perdido un protón, y el ácido conjugado es la especie creada, cuando la base acepta el protón. La reacción puede proceder en cualquier dirección hacia la derecha o la izquierda, en cada caso, el ácido dona un protón a la base. (18)

Por tanto, Brönsted y Lowry definen al agua como una sustancia anfótera y puede actuar como un ácido o como una base. El hidróxido de iones es la base conjugada del agua que actúa como un ácido y el ion amonio es el ácido conjugado de la base, el amoníaco. (18)

Una amplia gama de compuestos se pueden clasificar en el marco de Brønsted-Lowry: ácidos minerales y derivados tales como sulfonatos, fosfonatos, entre otros. Ácidos carboxílicos, aminas, ácidos de carbono, 1,3-dicetonas tales como la acetilacetona, el acetoacetato de etilo, y el ácido de Meldrum, y muchos más. (18)

Esta teoría representa un importante soporte en la presente investigación, ya que se basa en que Los colorantes usados en Histotecnología son colorantes selectivos, es decir, aquellos que por su constitución química particular, se combinan solamente con algunos elementos de las células o de los tejidos dejando sin teñir los demás para que los elementos a localizar o estudiar destaquen mejor. De acuerdo a la afinidad que poseen los colorantes hacia el núcleo o hacia el citoplasma, se clasifican en: nucleares o básicos y ácidos o citoplasmáticos. Esta clasificación se basa en afinidades químicas. Ejemplo: el núcleo que contiene ácidos nucleicos se combinan con colorantes básicos, el Citoplasma el cual es alcalino se combina con colorantes ácidos.

Los colorantes nucleares o básicos no son libres sino que todos son sales. Las sales son el producto de la unión de una base con un ácido; de esta manera en los colorantes básicos (los cuales son sales) la base es coloreada y el ácido es incoloro. Y en los colorantes ácidos pasa lo contrario, la base es incolora y el ácido tiene el color. (18)

Claro está, que en la histoquímica no solo existen reacciones ácido – base, sino también reacciones bioquímicas donde la principal característica a diferencia de sustancias acuosas expuestas por, Brønsted y Lowry, es que en medio de las reacciones intervienen moléculas del propio tejido, creando así distintos grupos moleculares, permitiendo, que los componentes ácidos tomen una tonalidad diferente a la de los básicos, a su vez los iones excitan moléculas cromógenas que brindan el color característico según el método utilizado, haciendo notable esta diferencia ante el microscopio.

Es importante finalizar, que la teoría de Brønsted y Lowry, habla de esas reacciones Ácido – Base y el intercambio de electrones de esta, dando así un estudio, a nivel químico, pero, se debe acotar que la histoquímica no solo se vale de métodos químicos, ya que intervienen métodos físicos de ante mano, que permiten obtener bajo el microscopio una visualización directa o indirecta de la sustancias de la célula.

### **Técnica de Microarrays**

Las tomas para un microarreglos de cada caso se basan en los equipos desarrollados hasta el presente, en la extracción de cilindros de los tacos de parafina utilizados en

forma convencional en los laboratorios de patología. Estos cilindros deben contener en su interior una muestra representativa de la lesión a estudiar. La técnica permite realizar cilindros de diferentes diámetros de acuerdo con las necesidades de la lesión a considerar. El patólogo selecciona las áreas más representativas de la toma biopsica para cada caso en el que implantara inmunomarcación. Dicho paso se realiza en un corte coloreado con H&E, con un marcador indeleble se identifican las zonas elegidas. Es importante aclarar que el plano del corte preparado analizado por el patólogo debe coincidir con la superficie del taco de parafina donde está incluida la toma biopsica en estudio. El técnico seleccionara en el taco de parafina el sector marcado por el patólogo. En esta zona se procederá a introducir el sacabocados con leves movimientos circulares con leves movimientos circulares que corta de una manera muy nítida y que es fácil de comprobar ulteriormente. Una vez realizada esta operación, con el cursor que tiene cada sacabocados se extrae muy fácilmente el cilindro de parafina del interior del mismo, que deberá ser cuidadosamente identificado, para realizara comparación de casos hay que preparar un bloque de parafina muestra de un espesor no superior a la longitud activa del sacabocados. Este bloque será perforado con el mismo diámetro de sacabocados con el que se realizan las tomas de los cilindros de los tacos de parafina con la muestras de tejido a estudiar. Estas perforaciones se realizarán ordenadamente de manera que nos permita individualizar cada caso del estudio. Una vez perforado el bloque de parafina muestra se procede a introducir cada uno de los cilindros obtenidos de los tacos de parafina que contiene las biopsias en las perforaciones previamente realizadas. Para asegurar esta operación puede calentarse sin que el bloque de parafina muestra llegue a fusión. Se completa el sellado con una gota de parafina. De esta forma se asegura muy efectivamente el cilindro dentro del bloque. Cuando están colocados cada uno de los cilindros y sellados con parafina líquida; se procede al corte convencional con micrótopo, el correspondiente montaje en portaobjetos siliconados. (19).

Con este tipo de muestras se realizan las técnicas de demostración que se hayan programado es conveniente el control del material con cortes coloreados con Hematoxilina y Eosina.

Las ventajas más características se pueden enumerar en los siguientes epígrafes: Alto rendimiento y capacidad.

- Baja relación coste/eficiencia
- Alta especificidad y sensibilidad
- Permiten realizar ensayos con enfoques cuantitativos
- Ensayos reproducibles y transportables.
- Paralelismo, es decir, realizar ensayos simultáneos utilizando muestras diferentes.
- Multiplexación, es decir, realizar varios ensayos utilizando una única muestra.
- No se precisa el manejo de radioactividad
- No se precisa disponer de un plan especial para la gestión de los residuos
- No se precisa un elevado coste en reactivos
- Se pueden conservar por más tiempo entidades biológicas raras, al emplearse cantidades

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tomando en consideración el propósito de la investigación y sobre la base del fundamento teórico, se obtuvieron los siguientes resultados que confirman la investigación. Por lo que, se formularon las siguientes conclusiones:

- El método del microarrays permite la exploración simultánea de un número grande de biopsias de diferentes orígenes. Si bien algunos laboratorios de Anatomía Patológica utilizan metodologías similares, esta técnica ha sido un procedimiento que presenta pocos inconvenientes en su realización, el material para su realización es de simple obtención y es de fácil interpretación histopatológicas.
- La técnica de microarrays en histoquímica permite crear un bloque control que nos sirva de confirmación ante otras laminas histológicas con métodos convencionales que puedan darnos falsos positivos o falsos negativos, teniendo en cuenta que esta también nos permite eliminar archivos titulares que ocupen espacio en el laboratorio.
- A través de un equipo multidisciplinario se pueden diseñar estrategias para conocer la técnica de microarrays de tejidos, dirigido a estudiantes y Profesionales, que ayuden en la actualización de conocimientos para mejorar la calidad profesional y para que pueda ser implementada como método efectivo, ya que es una técnica que se puede implementar con bajo recursos económicos, en diferentes áreas como la Inmunohistoquímica, la Inmunofluorescencia y a su vez reduce tiempo en el laboratorio.

Es por esto que se recomienda implementar la técnica de microarrays como método más efectivo en el análisis de patologías, ya sea con técnicas histoquímicas o Inmunohistoquímicas. Con el fin de lograr una actualización en los conocimientos de los estudiantes y profesionales, y así avanzar en el amplio campo de las ciencias médicas, implementando estrategias en las instituciones de estudios o laboratorios patológicos donde se labora, para conocer dichas técnicas innovadoras y poder crecer

profesionalmente, incorporando siempre a los profesionales, estudiantes de histotecnología o carreras afines para minimizar el desconocimiento de este avance tecnológico.

Sin embargo es importante considerar algunos inconvenientes que no se pueden pasar por alto, tales como:

- La manipulación de múltiples muestras puede dar origen a errores de identificación, aun en los laboratorios más sofisticados.
- La localización de la lesión a investigar depende, del médico especialista que decide la zona de toma.
- Y Es importante verificar que el área seleccionada por el patólogo coincida con el cilindro ubicado en el portaobjetos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Barrero P. Roxana. Aplicaciones de la técnica de *microarrays* en ciencias biomédicas: presente y futuro. Química Viva [revista en Internet] 2005 Diciembre [acceso 05de octubre del 2013] 3. Disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/V4n3/Barrero.htm>
2. Otero-Rey E, García-García A, Barros-Angueira F, Torres-Español M , Gándara-Rey JM , Somoza-Martín M. Microarrays de DNA en el cáncer oral. Med. Oral [revista en Internet] 2004 [acceso 05de octubre del 2013] 9 (288-92) Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1698-44472004000400003](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472004000400003)
3. Fernando López-Ríos, “Aplicación de las matrices de tejido (“tissue microarrays”) al estudio de los carcinomas de pulmón no microcíticos.” En: M. Sánchez-Céspedes, ES - R. Rosell, ES, Curso de la ESO en español, Madrid 17-18 febrero, CNIO; 2005, p.108 – 112.
4. Miguel Ángel y José Palacios, “Diagnostico Molecular” En: Willian Alan Franco Bustamante , Investigación de transferencia en cáncer: del laboratorio a la clínica, Madrid, CNIO, 2005-2006, p. 9 – 15.
5. Plourde Castillo M. Relación entre la biología y la Informática Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos15/biochip/biochip.shtml>
6. López M, Mallorquín P, Vega M. Microarrays y Biochips, Informe de vigilancia tecnológica. GENOMA ESPAÑA/ GBIT-FGUAM de ADN. Madrid. Spainfo 2002. Disponible en: <http://www.cecalc.ula.ve/bioinformatica/BIOTUTOR/Microarrays.pdf>
7. “Microarrays al servicio de la investigación y de la salud” En: III Simposio Internacional UADE de Biochips. Argentina. 2009.
8. Fernández S, Alonso G, Toro E. Estructura de mosaico del cromosoma bacteriano: Islas patogénicas. Rev. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel [revista en Internet] 2004 [acceso 24 de septiembre de 2013] 35. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0798-04772004000200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0798-04772004000200005&script=sci_arttext)
9. Aular Y. Fernández Y, Reigosa A, Landaeta1 G, Sutil1 R. Actividad de Glutación Peroxidasa y Fibrosis Pulmonar: Papel de la Asociación N-

- Acetilcisteína-Trimetazidina en un Modelo Experimental con Paraquat. Rev. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel [revista en Internet] 2007 [acceso 24 de septiembre de 2013] 38. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-04772007000200001&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-04772007000200001&script=sci_arttext)
10. Barrero P. Aplicaciones de la técnica de microarrays en ciencias biomédicas: presente y futuro. Química Viva [revista en Internet] 2005 [acceso 24 de septiembre de 2013] 4 (91-100) Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86340304>
  11. Escobar J, Austillo A, Menendez Rodriguez P, Belyakoba E. Aplicación de los tissue Microarrays en el estudio inmunohistoquímico de los tumores. REV ESP PATOL[revista en Internet] 2006 [acceso 05de octubre del 2013]; 39 (7) Disponible en: <http://www.patologia.es/volumen39/vol39-num1/pdf%20patologia%2039-1/39-01-03.pdf>
  12. López Regalado O. Metodología del trabajo intelectual. Universidad Católica Santo Toribio de Mogroviejo. 2008[acceso 24 de septiembre de 2013] Disponible en: <http://www.slideshare.net/guestd42e1be/estructura-formal-de-la-monografa>.
  13. Biblioteca Facultad Nacional de Salud Pública. Estructura y normas para la presentación de trabajos de grado Estilo Vancouver. Universidad de Antioquia 2005 Disponible: [http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/512/MODULO\\_1/Modulo\\_Escritura/Unidad\\_5/Normas\\_Vancouver\\_2005\\_Junio\\_22\\_2005\\_1\\_.pdf](http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/512/MODULO_1/Modulo_Escritura/Unidad_5/Normas_Vancouver_2005_Junio_22_2005_1_.pdf) Consultado: 10 de septiembre de 2013
  14. JOSE MIGUEL MOLINA VIDES, “El conocimiento científico”. Universidad Católica de el salvador facultad de ciencias empresariales. 2013 Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/156738340/EL-CONOCIMIENTO-CIENTIFICO-1-1>
  15. [Repositoriodigital.ipn.mx/](http://Repositoriodigital.ipn.mx/)(sede Web). 2011- 12 -17- [actualizada en; acceso 06 de octubre del 2013] 2012 – 09 Barajas Oliveros A. Caracterización del Inmunofenotipo para el EGFR, TBXA2R Y SMAD3 en Arreglos de Tejido para el Diagnóstico Diferencial Entre Adenoma e Hiperplasia Paratiroidea en una Muestra de Pacientes Intervenidos Quirúrgicamente por HPTP no Familiar

- [monografía en Internet] 2011 [acceso 05 de octubre del 2013]  
Disponible en:  
<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8983>
16. Rivera P, Piña Osuna A, Soto Dominguez A, Garcia R. Comparación Histológica e Inmunohistoquímica de Muestras de Tejido Procesadas por la Técnica Convencional o por el Método Simplificado de Acetonas. Int. J. Morphol. [revista en Internet] 2011 [acceso 05 de octubre del 2013] 29(2). Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071795022011000200046&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071795022011000200046&script=sci_arttext)
17. Alfaro-Burgos S. & Valenzuela-Estrada, M. Efecto en la Estructura Histológica del Timo de Ratas Sprague-Dawley Tratadas con Trióxido de Arsénico. Int. J. Morphol [revista en internet], 30(2) 769-76. 2012 [acceso 05 de octubre del 2013] Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-95022012000200068&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-95022012000200068&script=sci_arttext&tlng=pt)
18. Laura Armida Chapa Gonzále, Teoría de Acido - Base de Brönsted-Lowry. [Sitio en internet] Disponible en: <http://cb10laura.blogspot.com/2011/02/teoria-acido-base-de-bronsted-lowry.html> Consultado: 20 de septiembre de 2013.
19. Compendio de coloraciones histológicas. Autor: Dra. Claudia Blanenier de Suarez y Lic. Enrique Montenegro Yáñez. Caracas, noviembre 2004.